

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO ANATÔMICO DE *CRYPTOSTEGIA GRANDIFLORA* — III: NOTA SÔBRE A ESTRUTURA SECUNDÁRIA

F. R. MILANEZ

Jardim Botânico do Rio de Janeiro

Em dois trabalhos anteriores (MILANEZ 1959; MILANEZ 1960-1) apresentamos os resultados de nossas pesquisas sôbre a estrutura do embrião e do corpo primário de *Cryptostegia grandiflora*. Circunstâncias várias obrigaram-nos a interromper êsses estudos; antes de retomá-los propomo-nos a relatar, embora de modo muito sumário, duas séries de fatos observados que se nos afiguram plenos de interêsse.

Diz respeito a primeira ao sistema laticífero do corpo secundário dessa asclepiadacea, que compreende tubos de duas categorias principais: a) laticíferos que estão inclusos nos raios do lenho e do liber com os quais se desenvolvem; b) laticíferos (axiais) do liber secundário, oriundos, como êste, do câmbio.

a) A propósito da estrutura primária, expuzemos a maneira como, do nosso ponto de vista, a diferenciação laticífera cruza precocemente o procâmbio: conseguimos, então, colher fotomicrografias altamente elucidativas sôbre o processo, mostrando que certos laticíferos se formam à custa do procâmbio e seguem um trajeto oblíquo no interior do lenho e liber primários. Os tubos assim diferenciados mantêm sua continuidade através do câmbio, mesmo quando êste meristema se multiplica para dar origem ao lenho e liber secundários. Nos casos felizes é possível acompanhar num mesmo corte a maior parte de seu trajeto dentro do lenho e liber secundários, o qual se apresenta, agora, transversal (Foto 1). De início sua parede é relativamente espessa e rica em poliuronídios, corando-se com intensidade pela hematoxilina férrica (Fotos 2 e 3). Em sua volta o câmbio diferencia sobretudo células de parênquima do raio, o qual se torna, por êsse modo, multi-seriado (Foto 3).

Ainda há bastante obscuridade no que tange ao processo de formação e crescimento dêsses tubos. Colhemos, todavia, alguns aspectos nos numerosos cortes examinados, que sugerem certa explicação para o curioso fenômeno.

Tendem os partidários da teoria clássica a admitir que os tubos em causa ou seus ramos se estendam por crescimento apical, através do câmbio e tecidos que êle produz, inclusive o lenho, à maneira de hifas, sem considerar as dificuldades dessa penetração por entre as células lignificadas do raio onde os espaços intercelulares são mínimos; não precisam, porém, a

época dessa penetração. Na verdade, quando quer que esta ocorresse, haveria sempre necessidade de explicar o ulterior crescimento do tubo que só poderia ser de natureza intercalar e obviamente ao nível do câmbio.

Os autores modernos, na maioria, silenciam sobre o assunto. Há, porém, duas menções do fato, pelo menos, em trabalhos mais recentes. WOODS-WORTH 1932 a respeito dos tecidos da apocínea *Beaumontia grandiflora*, já observa que durante a diferenciação, abaixo do promeristema, alguns dos laticíferos cruzam aparentemente a região procambial: as células que lhes ficam adjacentes são afetadas na maturação, permanecendo parenquimatosas. Também BLASER 1945 descreve o mesmo fenômeno em *Cryptotegia grandiflora*, com maiores minúcias, atribuindo-o à penetração ativa do ramo laticífero através do procâmbio.

Aceita a existência desses ramos laticíferos procambiais, o que parece ponto pacífico para os anatomistas contemporâneos, não há como falar-se em "penetração do lenho secundário" pelos tubos; estes apenas irão alongar-se, na medida em que se espessar a camada de deuteroxilema, por crescimento intercalar típico (e não apical) restrito à região cambial. Este é o aspecto essencial do fenômeno que não parece ter sido bem percebido por BLASER, o que se explica por ter êle estudado plântulas com dois anos, no máximo.

Nesses tubos as paredes tornam-se, com o tempo, mais finas, conservando-se celuloso-pécticas. Aparentemente conservam êles suas conexões internas, com as porções verticais situadas no lenho primário, e externas, com os trechos localizados no floema primário, crescendo ao nível do câmbio. Êste é um fato que está a merecer estudo acurado. Dos numerosos cortes que examinamos, colhemos a impressão de que tal crescimento é, de certo modo, reativado periódicamente pela anexação de células meristemáticas da região cambial ao sincício laticífero. É esta, pelo menos, a interpretação mais consentânea com os aspectos exibidos por certas preparações. Assim, na foto 4, há uma célula meristemática já na cavidade do tubo; duas, nas mesmas condições, são vistas no tubo radial da foto 7. Mais significativa ainda é a anexação de célula do câmbio ao sincício laticífero, bem perceptível na foto 6 obtida com dispositivo de contraste de fase. A essas imagens obtidas de cortes transversais, acrescenta-se a da foto 8, de um corte radial. Aqui são evidentes células do câmbio, proeminentes na cavidade do tubo radial, cuja anexação ao sincício é de prever-se.

Outra possibilidade existe: a formação de laticíferos no interior dos raios secundários do lenho. Nesse caso, é claro, a diferenciação será centrípeta, partindo de algum ramo de laticífero liberiano, com o qual deverá manter conexão. Embora se nos afigure possível essa eventualidade, não nos foi dado comprová-la objetivamente.

b) A segunda categoria de laticíferos da estrutura secundária é representada pelos tubos do liber oriundos do câmbio.

A êsse respeito, é interessante relembrar que vários autores antigos referiram-se aos laticíferos contínuos do liber secundário, atribuindo sua

formação à atividade do meristema cambial. Sobressai entre êsses DIPPEL 1865 que os descreveu em alguns representantes das Moraceas e Asclepiadaceas, aceitando por líquida sua origem a partir do câmbio. Já diferente é a atitude de DE BARY 1877, em cujos laboratórios SCHMALHAUSEN realizou suas investigações clássicas. Tendo observado, êle próprio, os laticíferos contidos em abundância na casca de *Morus*, *Ficus*, *Maclura* e *Nerion*, confessou sua incapacidade em decidir se os mesmos se originavam de nôvo do câmbio, ou se constituíam meros ramos dos tubos primitivos (embrionários) que tivessem penetrado na casca.

Após a divulgação dos resultados das aludidas investigações (SCHMALHAUSEN 1877) e das procedidas por CHAUVEAUD 1891, firmou-se a convicção da impossibilidade da formação de novos laticíferos, além dos provenientes do crescimento das “células laticíferas” embrionárias, nas plantas dotadas de tubos contínuos ou “não-articulados”. Êste é ainda, com relação às Urticaceas, Moraceas, Euforbiaceas, Apocinaceas e Asclepiadaceas, o ponto de vista adotado por HABERLANDT 1928, com base em CHAUVEAUD, para o qual os “tubos secundários” que aparecem entre os produtos da atividade cambial são simplesmente novos ramos emitidos pelo sistema laticífero primário em pontos adequados.

Os anatomistas modernos não tratam, em geral, dêsses laticíferos. BLASER 1945, todavia, volta a negar perentoriamente a existência de tubos “which can be considered phloem or xylem latex-cells”; como, entretanto, revela êsse autor ter estudado plantas que contavam dois anos de idade, sua asserção tem pouco valor.

Do exame de material mais velho podemos afirmar com tôda a segurança que se formam no liber secundário, a partir das iniciais do câmbio, células laticíferas que logo se fusionam verticalmente dando origem a tubos contínuos. Processo de escolha para comprovar-se a existência dêsses tubos é por meio de estacas bem enraizadas e vivas, que devem ser fixadas por inteiro, para evitar-se a perda de látex, na mistura F.P.A. (Formol — 5 partes; Ácido propiônico — 5 partes e Álcool a 70% — 90 partes, em volume). Depois de lavadas em álcool a 70%, serão reduzidas a fragmentos de tamanho conveniente à microtomização. Os cortes coloridos pelo Sudan IV, que cora intensamente o látex em vermelho e a seguir pela hematoxilina de Delafield diluída serão montados em glicerina a 50% ou em xarope de Apathy.

As fotografias dessas preparações, obtidas com auxílio de filtro verde, põem em destaque tubos de látex pela côr negra do seu conteúdo. Cortes transversais, como o da foto 9, mostram os laticíferos secundários próximos do câmbio; um pouco mais distantes dêste e com maior diâmetro, vêem-se os laticíferos do liber primário.

Melhor demonstração da existência dêsses tubos de origem cambial é propiciada pelos cortes longitudinais. Assim, na foto 10, observa-se um laticífero ainda muito perto do câmbio (à esquerda, é bem visível o lenho secundário, em secção tangencial), cujo aspecto parece denunciar clara-



mente sua natureza pluricelular: note-se que as células que aparentemente se fusionaram para lhe dar origem apresentam dimensão longitudinal comparável à dos elementos vasculares do lenho, a qual deve corresponder à das iniciais do câmbio.

Cortes mais finos se obtêm com material fixado na mistura de Benda e incluído em parafina. O da foto 11, transversal, mostra na porção superior o liber primário com grupos de vasos do floema comprimidos e laticíferos maiores; na metade inferior o liber secundário, com seus elementos condutores ainda em pleno funcionamento, exhibe tubos secundários de látex que aparece um pouco menos escuro (redução do ácido ósmico do fixador), com diâmetros um tanto menores. Nos cortes longitudinais tangenciais (Fotos 12 e 13) surgem aspectos semelhantes aos da foto 10; com aumento maior, pode-se observar, às vezes, perfuração subterminal, na parede radial como na foto 14.

A segunda série de fatos relaciona-se com a formação da feloderme esclerosada, comum a várias Asclepiadaceas. O felogênio, relativamente precoce, desenvolve-se já no 5.º ou 6.º entre-nó, segundo BLASER 1945. Os esclerócitos que constituem toda a feloderme, conservam a forma tabular das células-mães, pois muito pouco crescem na direção radial. Suas dimensões tornam-se às vezes menores que as dessas células, em consequência à sua divisão, no início da diferenciação esclerenquimática, por paredes anticlinais. Por ora, desejamos apenas pôr em relevo certo fenômeno que consideramos como o mais significativo dessa diferenciação.

Há muito que tivemos nossa atenção despertada por um fato de ocorrência generalizada: a conversão em esclerócitos de células que continham anteriormente cristais de oxalato de cálcio. Nos diversos casos observados eram patentes, em geral, fases intermediárias da diferenciação, onde se percebiam vestígios dos cristais. Eis porque já quase há três décadas, no estudo anatômico do lenho de *Aspidosperma aquaticum* (MILANEZ 1937), havíamos escrito: "Convém recordar a propósito da causa dessas anomalias, que nas espécies *Aspidosperma quebracho* e *A. lucentivenium* eu encontrei células radiais esclerosadas, tendo atribuído essa alteração ao oxalato de cálcio, muito embora só muito raramente tivesse observado cristais minúsculos de oxalato de cálcio no interior dos esclerócitos. Mas supuzera que justamente a redissolução dos cristais (já por mim constatada em outras madeiras) fosse a causa do espessamento parietal. Assinale-se que, quase sempre, tínhamos inferido a responsabilidade do oxalato redissolvido, apoiados na presença de fragmentos de cristais no esclerócito.

A diferenciação da feloderme da espécie em análise constitui, ao que se nos afigura, confirmação objetiva do nosso ponto de vista, a saber, que o fenômeno de "esclerose" está aparentemente relacionado com a prévia redissolução dos cristais de oxalato de cálcio dos elementos atingidos.

Em realidade, aqui, todas as células-mães da feloderme contêm cristais em número invulgar. Eles estão dispostos com toda a regularidade dentro da célula, o que permite seja elevado o seu número (Foto 19.) À medida que se processa o espessamento e lignificação da parede, ocorre a redis-

solução dos cristais que muitas vezes apenas são perpectíveis à luz polarizada. As fotos 17 e 18, mostram várias fases da diferenciação, à luz normal e polarizada respectivamente. Alguns cristais, ou seus fragmentos, são visíveis na parede do esclerócito já em adiantada etapa da evolução.

Gostaríamos, portanto, de reafirmar nossa convicção sobre a existência de certa relação entre o fenômeno da redissolução dos cristais de oxalato de cálcio e a estrutura da parede celular madura; quase sempre ela se traduz por espessamento e lignificação (parede secundária). Nada sabemos quanto à natureza dessa relação ou, sequer, se ela é *necessária*. Mas no caso em aprêço, sobretudo, é muito significativa para o nosso ponto de vista a concomitância dos dois fenômenos.

BIBLIOGRAFIA

- 1) DE BARY, A. 1877 — Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane der Phanerogamen und Farne: Leipzig. 1877.
- 2) BLASER, H. W. 1945 — Anatomy of *Cryptostegia grandiflora* with special reference to the latex system. Am. Jour. Bot. 32 (3) : 135. 1945.
- 3) CHAUVEAUD, M. G. 1891 — Recherches embryogeniques sur l'appareil laticifère des Euphorbiacées, Urticacées, Apocynacées et Asclepiadées — Diss. Paris, 1891.
- 4) DIPPEL, L. 1865 — Entstehung der Milchsaftgefäße und deren Stellung in dem Gefäßbündelsysteme der milchenden Gewächse — Nieuwe Verhand. v. Het Bat. Genootschap d. Proefond. Wijsbeg. te Rotterdam — 12 (3). 1865.
- 5) HABERLANDT, G. 1928 — Physiological Plant Anatomy (Trad. ingl. de M. Drummond) : Londres. 1928.
- 6) MILANEZ, F. R. 1937 — "Anatomia do Lenho de *Aspidosperma aquaticum* Ducke" — Arq. Inst. Biol. Vegetal, Rio de Janeiro, 4 (1) : 65. 1937.
- 7) — 1959 — "Contribuição ao conhecimento anatômico de *Cryptostegia grandiflora* — I Embrião. Rodriguésia, Rio de Janeiro, 12-13 (33-34) : 347. 1959.
- 8) — 1960-61 — "Contribuição ao conhecimento anatômico de *Cryptostegia grandiflora* — II Sobre os laticíferos da Estrutura primária" — Rodriguésia, Rio de Janeiro, 14-15 (35-36) : 99. 1961.
- 9) SCHMALHAUSEN, J. 1877 — Beiträge zur Kenntniss der Milchsaftgefäße der Pflanzen — Mem. Acad. Imp. St. Petersburg, Ser. 7-24. 1877.
- 10) WOODWORTH, R. H. 1932 — "Diaxillary laticiferous cells of *Beaumontia grandiflora*" — Jour. Arnold Arboretum 13: 35. 1932.

LEGENDAS DAS FOTOMICROGRAFIAS

Foto 1 — Corte transversal do caule, mostrando um laticífero incluso em raios do lenho e liber secundários; vê-se também a abertura (secção transversal) da porção axial liberiana.

Fotos 2 e 3 — Cortes transversais do caule, no início da estrutura secundária, mostrando dois aspectos do mesmo laticífero radial, cujo trajeto é ainda levemente oblíquo; na Foto 2 vê-se, em secção transversal, a porção liberiana, axial do laticífero.

Fotos 4, 5, 6 e 7 — Cortes transversais do caule, com estrutura secundária, mostrando aspectos ao nível do câmbio. 500 x. — 4: Uma célula cambial já se encontra na cavidade do laticífero. — 5: Laticífero radial onde se vê, na região do câmbio, espaço vazio deixado provavelmente por uma de suas células, anexada ao sincício. — 6: Célula cambial incorporada pelo laticífero (contraste de fase). — 7: Duas células do câmbio ao serem anexadas ao laticífero radial.

Foto 8 (790 x) — Corte radial mostrando duas células do câmbio proeminentes na cavidade do laticífero do ralo.

Foto 9 (20 x) — Corte transversal de estaca fixada por intelo e colorida pelo Sudan IV e Hematoxilina de Delafield.

Foto 10 (80 x) — Corte tangencial da estaca, preparada como na foto anterior.

Foto 11 (290 x) — Corte transversal do caule, na região do liber, vendo-se na metade superior o floema primário e na inferior, o secundário — Fixação pela mistura de Benda e coloração pela Hematoxilina férrica.

Fotos 12 e 13 — Cortes tangenciais do liber secundário, preparados como o da foto anterior. Assinalados os laticíferos.

Foto 14 (500 x) — Corte tangencial preparado como os dois anteriores, mostrando abertura subterminal na parede radial de dois elementos de um laticífero.

Foto 15 (310 x) — Corte radial mostrando o início da formação da feloderme; à esquerda, várias camadas de felema.

Foto 16 (310 x) — Corte tangencial oblíquo na região do felogênio-feloderme, com luz polarizada (nicóis não perfeitamente cruzados) vendo-se os cristais nas células-mães da feloderme.

Foto 17 (500 x) — Células-mães da feloderme em diversas fases da diferenciação.

Foto 18 (500 x) — Mesmo campo microscópico, luz polarizada.

Fig. 19 (500 x) — Corte tangencial oblíquo na região felogênio-feloderme, vendo-se várias células-mães chelas de cristais de oxalato de cálcio.

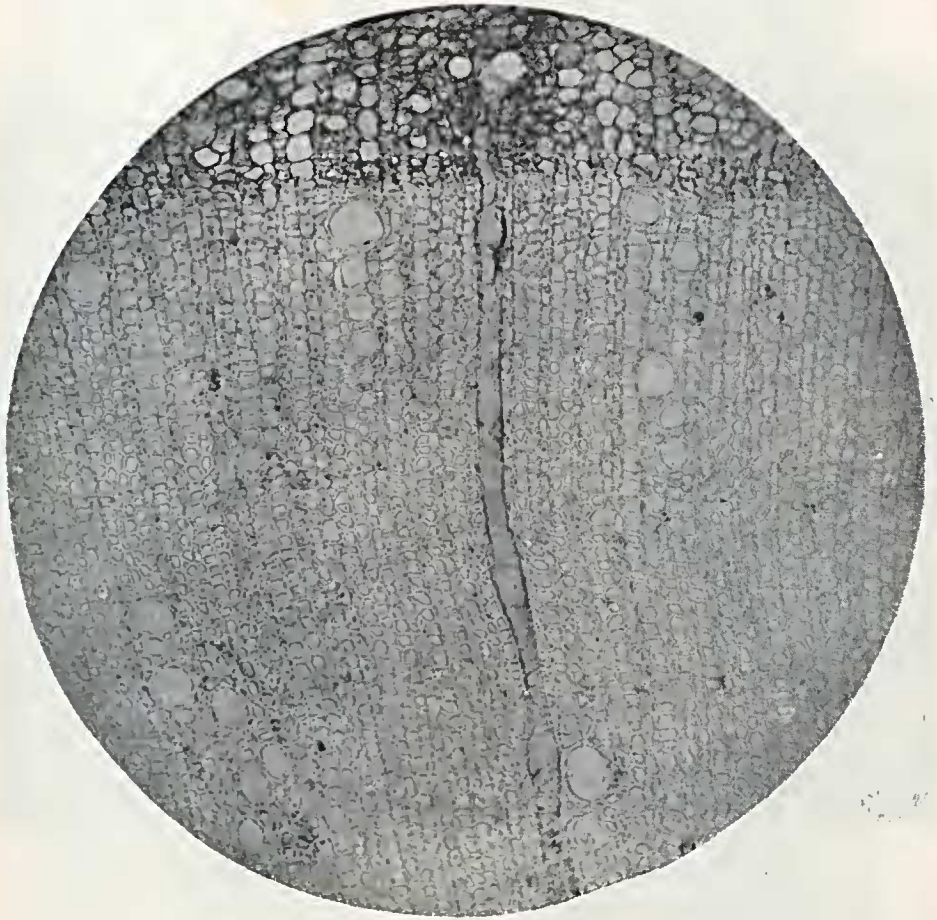


Foto 1 (128x)



Foto 2 (500x)



Foto 3 (500x)



Foto 4 (500x)



Foto 5 (500x)

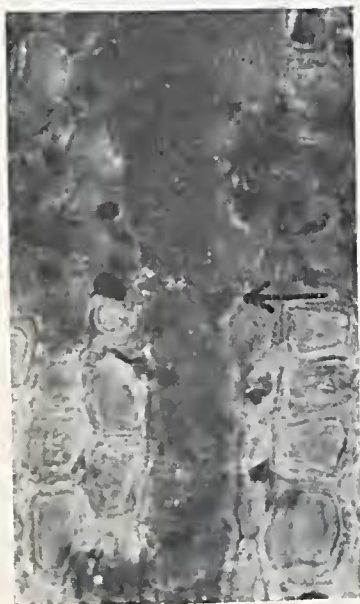


Foto 6 (700x)

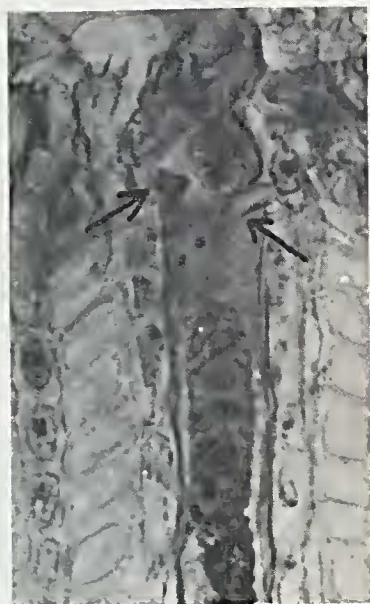


Foto 7 (500x)

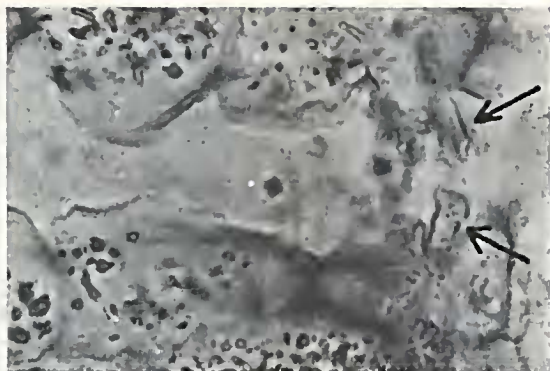


Foto 8 (790x)

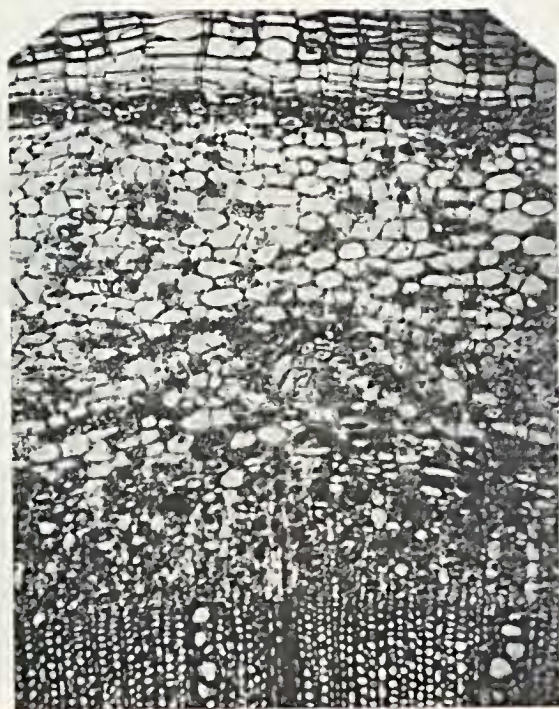


Foto 9 (80x)

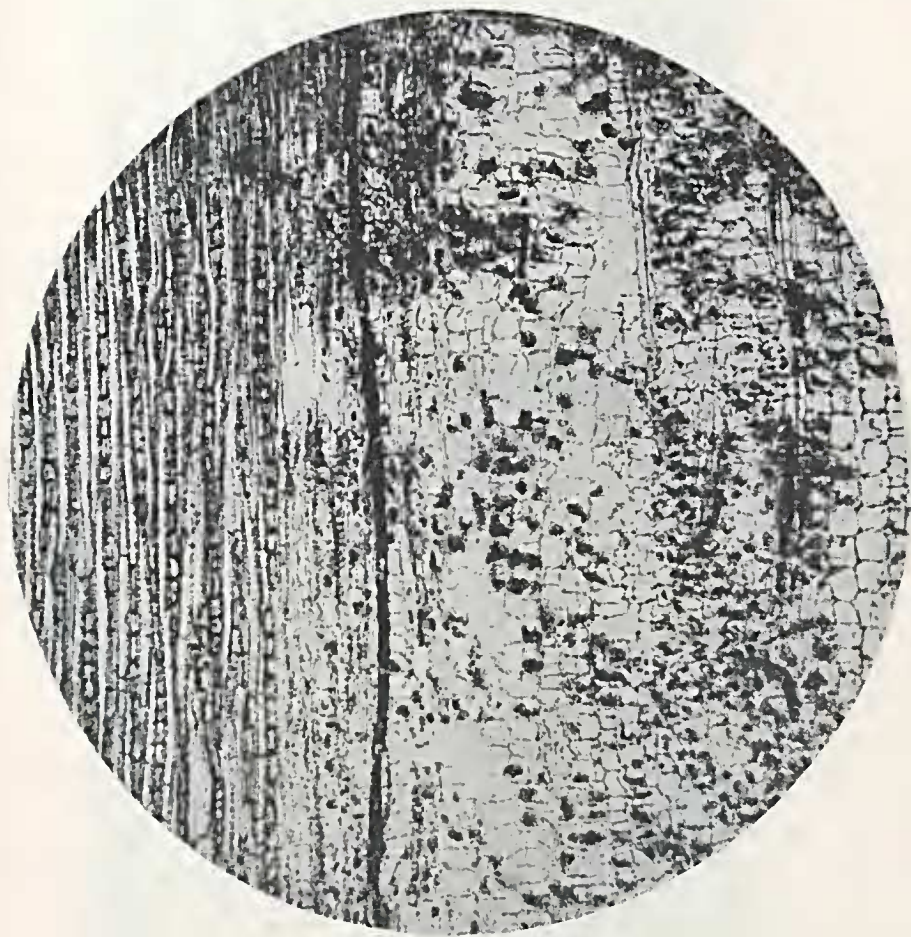


Foto 10 (80x)

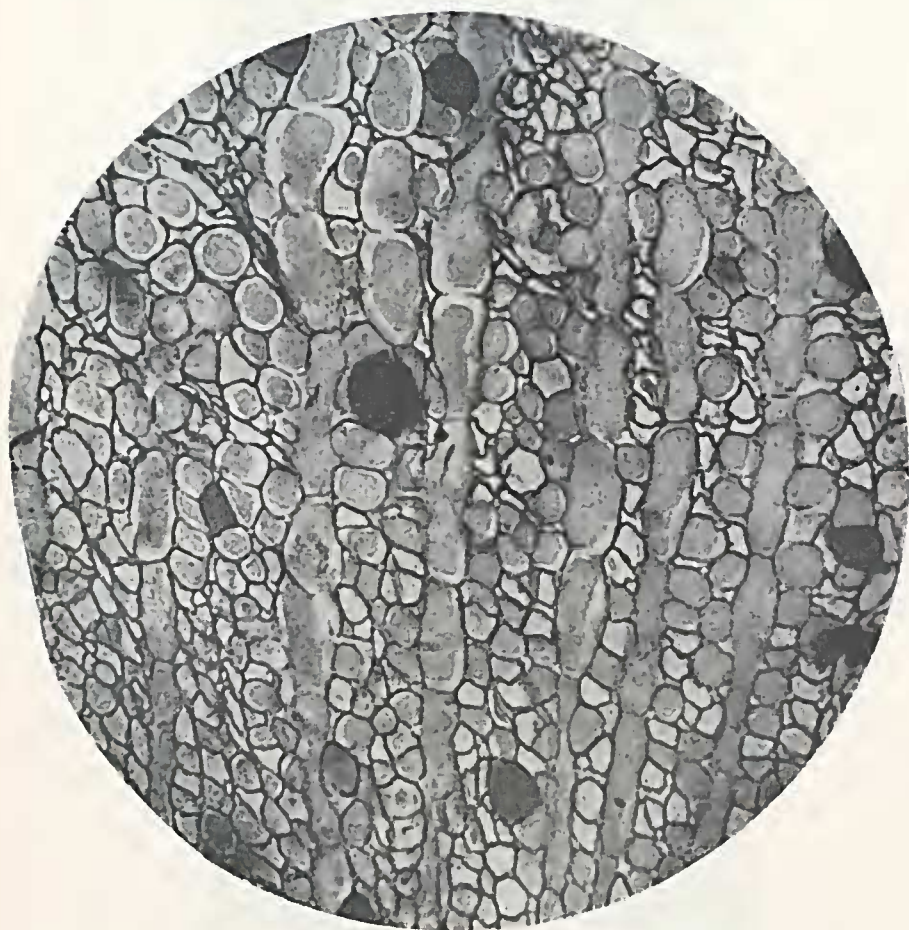


Foto 11 (290x)



Foto 12 (78x)

Foto 13 (128x)

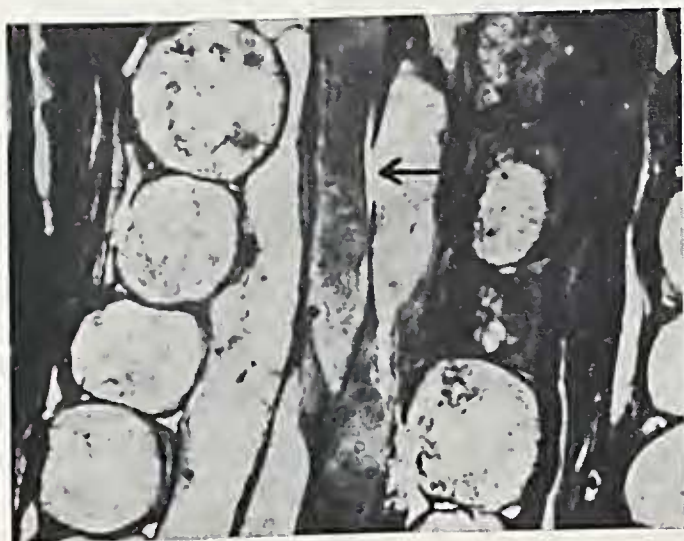


Foto 14 (500x)



Foto 15 (310x)



Foto 16 (310x)

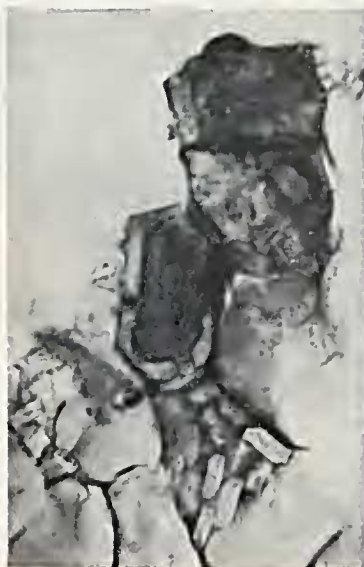


Foto 17 (500x)



Foto 18 (500x)

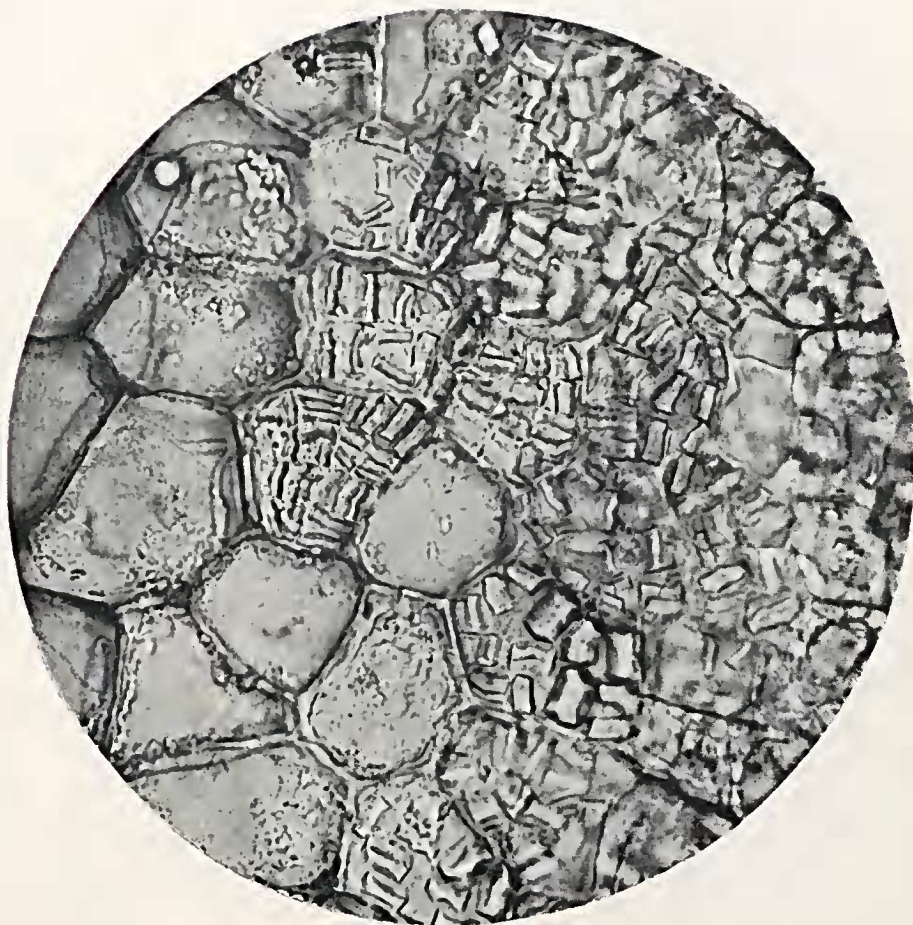


Foto 19 (500x)